

CLAIMS

1. Method for preparing, by filtration, a factor VIII solution which is virally secure and essentially devoid of high molecular weight vWF, according to which:

- a solution containing highly or very highly pure factor VIII is prepared, which contains or is essentially devoid of high molecular weight factor VIII-vWF complexes;

- a step a) is optionally carried out, which enables, if required, the dissociation of the high molecular weight factor VIII-vWF complexes and the production of a solution which is essentially devoid of high molecular weight vWF-associated factor VIII;

- a step b) is carried out, of filtration of said solution which is essentially devoid of high molecular weight vWF-associated factor VIII through a hydrophilic filter having a porosity as low as 15 nm.

2. Method according to claim 1, characterized in that said dissociation step is carried out by means of a chaotropic ion in sufficient amount to enable the dissociation.

3. Method according to claim 2, characterized in that said chaotropic ion is a divalent ion.

4. Method according to claim 3, characterized in that said divalent ion is the Ca^{2+} ion.

5. Method according to one of claims 2 to 4, characterized in that said divalent ion is added in the form of a saline solution from 0.2 M to salt saturation.

6. Method according to claim 5, characterized in that said solution is a CaCl_2 solution.

7. Method according to either of claims 5 or 6, characterized in that said Ca^{2+} ion is added in the form of a CaCl_2 solution, 0.35 M to saturation.

8. Method according to one of claims 1 to 7, characterized in that step b) is carried out at a

pressure lower than the recommendation threshold recommended by the supplier.

9. Method according to claim 8, characterized in that said filter is a Planova® 15 N membrane used at a
5 pressure lower than 0.3 bar, preferably lower than 0.2 bar.

10. Method according to one of claims 1 to 9, characterized in that step b) is carried out at a temperature of approximately $35 \pm 5^\circ\text{C}$.

10 11. Method according to any one of claims 1 to 10, characterized in that the starting solution is obtained by purification of a plasmatic fraction, in particular the cryoprecipitated fraction of the plasma, by ion exchange chromatography.

15 12. Method according to claim 11, characterized in that the concentrated factor VIII fraction obtained at the end of the purification by ion exchange chromatography is eluted under the dissociating conditions of step a).

20 13. Method according to one of claims 1 to 10, characterized in that the starting factor VIII solution is obtained by prepurification of a plasmatic fraction, in particular the cryoprecipitated fraction of the plasma, by heparin precipitation.

25 14. Method according to any one of claims 1 to 13, characterized in that the starting factor VIII solution is partially virally inactivated by solvent/detergent treatment.

30 15. Method according to one of claims 1 to 10, characterized in that the starting factor VIII solution comprises immunopurified factor VIII.

16. Method according to one of claims 1 to 10, characterized in that the starting factor VIII solution comprises recombinant factor VIII.

35 17. Method according to one of claims 1 to 16, characterized in that the factor VIII in the starting solution has a specific activity at least equal to 50 IU/mg, preferably at least equal to 100 IU/mg.

18. Method according to any one of claims 1 to 17,
characterized in that the factor VIII concentration C
of the starting factor VIII solution is from
approximately 2 to approximately 100 U/ml, preferably
5 from approximately 10 to approximately 50 U/ml.
19. Method according to one of claims 1 to 18,
characterized in that the protein content of the
starting factor VIII solution is from approximately
0.05 to approximately 0.5 mg/ml, preferably from
10 approximately 0.1 to approximately 0.5 mg/ml.
20. Virally secure factor VIII solution which can
be obtained by the method according to any one of
claims 1 to 19.
21. Solution according to claim 20, as a medicinal
15 product.
22. Solution according to claim 20, as a medicinal
product for treating hemophilia A.

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire 339551/17112	POUR SUITE A DONNER voir la notification de transmission du rapport de recherche internationale (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après	
Demande internationale n° PCT/FR 98/ 02715	Date du dépôt international(jour/mois/année) 14/12/1998	(Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) 15/12/1997
Déposant LABORATOIRE FRANÇAIS DU FRACTIONNEMENT ET ..et al.		

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend 3 feuilles.

☒ Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

1. Base du rapport

- a. En ce qui concerne la **langue**, la recherche internationale a été effectuée sur la base de la demande internationale dans la langue dans laquelle elle a été déposée, sauf indication contraire donnée sous le même point.
- ☐ la recherche internationale a été effectuée sur la base d'une traduction de la demande internationale remise à l'administration.
- b. En ce qui concerne **les séquences de nucléotides ou d'acides aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), la recherche internationale a été effectuée sur la base du listage des séquences :
- ☐ contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.
- ☐ déposée avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.
- ☐ remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- ☐ La déclaration, selon laquelle le listage des séquences présenté par écrit et fourni ultérieurement ne vas pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.
- ☐ La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous forme déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listage des séquences présenté par écrit, a été fournie.

2. ☐ Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (voir le cadre I).
3. ☐ Il y a absence d'unité de l'invention (voir le cadre II).

4. En ce qui concerne le titre,

- ☒ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.
- ☐ Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:

5. En ce qui concerne l'abrégé,

- ☒ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant
- ☐ le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.

6. La figure des dessins à publier avec l'abrégé est la Figure n°

- ☐ suggérée par le déposant.
- ☐ parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.
- ☐ parce que cette figure caractérise mieux l'invention.

☐ Aucune des figures n'est à publier.

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 6 C07K14/755 A61K38/37

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 6 C07K A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 96 00237 A (PHARMACIA AB ; WINGE STEFAN (SE)) 4 janvier 1996 voir page 5, ligne 21 - ligne 24 voir page 7, ligne 30 - page 8, ligne 20; revendications	1,9
A	WO 91 18017 A (FOND NAT TRANSFUSION SANGUINE) 28 novembre 1991 voir page 4, ligne 11 - ligne 15; revendications 1,5	1-7, 20-22
A	EP 0 197 554 A (ARMOUR PHARMA) 15 octobre 1986 voir page 3, ligne 16 - ligne 20 voir page 6, ligne 4 - ligne 20; revendications; exemple 6	1,20-22
	--- -/--	

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

4 mai 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

12/05/1999

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Fuhr, C

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	EP 0 383 645 A (ASSOCIATION D'AQUITAINE POUR LE DEVELOPPEMENT DE LA TRANSFUSION SANGUI) 22 août 1990 voir page 6, ligne 22 - ligne 27; revendications; exemple ---	1,20-22
A	EP 0 468 181 A (SCLAVO SPA) 29 janvier 1992 voir page 4, ligne 23 - ligne 29; revendications -----	1,20-22

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Requête Internationale No

PCT/FR 98/02715

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
W0 9600237 A	04-01-1996	SE 502820 C	22-01-1996
		AU 682274 B	25-09-1997
		AU 2813295 A	19-01-1996
		DE 796269 T	02-01-1998
		EP 0796269 A	24-09-1997
		ES 2105992 T	01-11-1997
		FI 965145 A	20-12-1996
		GR 97300038 T	28-11-1997
		JP 10502074 T	24-02-1998
		NO 965523 A	20-12-1996
		NZ 288789 A	19-12-1997
		SE 9402254 A	24-12-1995
W0 9118017 A	28-11-1991	FR 2662166 A	22-11-1991
EP 0197554 A	15-10-1986	US 4673733 A	16-06-1987
		AT 54828 T	15-08-1990
		AU 5596086 A	06-11-1986
		CA 1262682 A	07-11-1989
		DK 161786 A	12-10-1986
		JP 1863690 C	08-08-1994
		JP 61275210 A	05-12-1986
EP 383645 A	22-08-1990	FR 2644064 A	14-09-1990
		AT 88188 T	15-04-1993
		DK 383645 T	02-08-1993
		ES 2055875 T	01-09-1994
		JP 2282400 A	19-11-1990
		JP 2521551 B	07-08-1996
		US 5760183 A	02-06-1998
EP 0468181 A	29-01-1992	IT 1248723 B	26-01-1995
		CA 2044191 A	13-12-1991
		JP 4243899 A	31-08-1992
		US 5259951 A	09-11-1993

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

RECEIVED

JAN 11 2001

TECH CENTER 1600/2000

Applicant's or agent's file reference 339551/17112	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/FR98/02715	International filing date (day/month/year) 14 December 1998 (14.12.98)	Priority date (day/month/year) 15 December 1997 (15.12.97)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07K 14/755		
Applicant LABORATOIRE FRANÇAIS DU FRACTIONNEMENT ET DES BIOTECHNOLOGIES		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet.



This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 3 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 08 July 1999 (08.07.99)	Date of completion of this report 01 March 2000 (01.03.2000)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR98/02715

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.):

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-18, as originally filed,
pages _____, filed with the demand,
pages _____, filed with the letter of _____,
pages _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the claims, Nos. _____, as originally filed,
Nos. _____, as amended under Article 19,
Nos. _____, filed with the demand,
Nos. 1-23, filed with the letter of 31 January 2000 (31.01.2000),
Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the drawings, sheets/fig 1, as originally filed,
sheets/fig _____, filed with the demand,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR 98/02715

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

The amendments to the present application, submitted with the fax dated 31 January 2000, comply in form with the requirements of PCT Article 34(2).

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR 98/02715

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-23	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-23	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-23	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Reference is made to the following document:

D1: WO 96/00237

The following document was not cited in the international search report. A copy of this document is attached as an annex hereto.

D2: J. CHROMATOGR. B. BIOMED. APPL., Vol. 662, No.2, 9 December 1994, pages 181-190, Josic et al. 'Purification of factor VIII and von Willebrand factor from human plasma by anion-exchange chromatography' MEDLINE ABSTRACT.

1. Novelty

None of the documents cited describes a method for obtaining a virally safe solution of the plasma protein complex called factor VIII (cf. **Point VIII**, paragraph 1), said solution being essentially free of high molecular weight vWF and obtained from a solution containing high molecular weight factor VII-vWF complexes, said method combining a dissociation step and a filtration step using a filter with a porosity of 15 nm.

The present application therefore complies with the requirement of novelty set out in PCT Article 33(2).

2. Inventive step

In the present application, the underlying technical problem is the elimination of viruses which may be present in solutions containing factor VIII combined with vWF. The technical problem stems from the nature of the combination of factor vWF and factor VIII (vWF being a glycoprotein which circulates in plasma in the form of multimers with a molecular weight of between 850 kDa and 20,000 kDa, cf. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), "von Willebrand" article, entry number 193400): the size of this complex does not enable passage through the pores of the filters used in the prior art to eliminate viruses in recombinant factor VIII solutions as in **D1**.

The separation of factor VIII and vWF using treatment by Ca^{2+} ions after purification of the factor VIII-vWF plasma complex using chromatography is known, that is, "a high purity factor VIII solution" (see **D2**). The elimination of vWF proteins (that is, implicitly, high molecular weight vWF complexes) using chromatography is also envisaged in order to obtain a factor VIII solution free of vWF, and therefore, implicitly, free of high molecular weight vWF (see summary). Following the teaching of **D1**, a person skilled in the art could have envisaged filtering the solution of dissociated factor VIII/vWF which is obtained in order to eliminate virus particles and to promote the passage of factor VIII with a molecular weight of 295 kDa (that is, of a diameter less than that of parvoviruses, the smallest viruses considered) through the pores of the filter. Nonetheless, nothing would have prompted a person skilled in the art to do this

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR 98/02715

since the filters needed for elimination of small viruses have a porosity of 15 nm and theoretically only allow molecules of a molecular weight lower than 160 kDa to pass through.

Consequently, the present application complies with the requirement of inventive step set out in PCT Article 33(3).

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

1. In the claims as formulated, a major confusion arises from the fact that the designation "factor VIII" applies not only to the "factor VIII" polypeptide but also to the plasma protein complex formed from the combination of a "factor VIII" polypeptide and several "vWF" polypeptides. The examples in the present application focus exclusively on a filtration method for factor VIII plasma protein complex, that is factor VIII complexed with vWF molecules (see page 8, lines 31-34; Tables 1, 2, 3 and 6; Figure 1), the said method necessarily comprising a treatment step using a chaotropic divalent cation and a filtration step using a filter with a maximum porosity of 15 nm.
2. **Claim 1** refers to a filter with a "porosity as low as 15 nm". The International Preliminary Examining Authority considers that this term refers to filters with porosity greater than or equal to 15 nm. However, the invention lies exclusively in the use of a filter with a porosity of 15 nm in order to allow, in an unexpected manner, wild factor VIII (295 kDa) to filter through and to achieve the proposed aim of the invention (the elimination of the smallest viruses). The use of filters with a greater porosity therefore does not solve the technical problem. **Claim 1** therefore does not fulfil the requirements of PCT Article 6.
3. Moreover, it appears that the fact that the initial solution must contain factor VIII-vWF complexes

VIII. Certain observations on the international application

(even if it contains recombinant factor VII in addition to these complexes (Claim 17), see page 4, lines 25-30; page 9, lines 7-12; page 11, lines 12-17)) is an essential feature enabling the method of the present invention to be distinguished from prior art methods (**D1**).

4. It is clear from the description (see the examples) that treatment using a high concentration chaotropic salt (final CaCl_2 concentration of 0.2 M), is a necessary feature for the definition of the invention.

In fact, all the examples in the present application include such a step. Moreover, **D1** suggests that the increase in filtration yield achieved at high salt concentrations (0.2 M and more, see Claim 1) comes from the fact that under these conditions, the proteins contract and can pass more easily through the pores of the filter (page 3, lines 12-13). Since **Claim 1** does not contain this feature (treatment with a chaotropic salt at, at least, 0.2 M), it does not fulfil the requirement of PCT Article 6 in conjunction with PCT Rule 6.3(b) which stipulate that an independent claim must contain all the technical features which are necessary for the definition of the invention.

5. In **Claim 1**, the relative terms ("high or very high purity", "high molecular weight") or the vague terms ("essentially") cast doubt as to the significance of the technical features to which they refer. The subject matter of the said claim is therefore not clearly defined (PCT Article 6).

VIII. Certain observations on the international application

6. The same is true for the term "approximately" (**Claims 19 and 20**).
7. In **Claims 2-8**, the reference to "high" molecular weight complexes is rendered all the more unclear by the fact that the description defines complexes of high molecular weight as containing more than 15 vWF per molecule of factor VIII, in contrast to complexes "with a degree of polymerisation ≥ 5 or ≥ 10 " (see page 11, lines 12-17). However, it is obvious that complexes with a degree of polymerisation ≥ 5 or ≥ 10 include high molecular weight complexes (that is, complexes with a degree of polymerisation ≥ 15).
8. **Claim 9** specifies that in the method of Claims 1-7, the filtration step is carried out "at a pressure lower than the threshold recommended by the supplier". This expression adds no feature enabling characterisation of the claimed method because the proposed pressure is not clearly defined (PCT Article 6).
9. **Claim 10** contains a trademark which should be removed (PCT Guidelines, III, 4.5b).

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

REC'D 07 MAR 2000

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)

61


Référence du dossier du déposant ou du mandataire 339551/17112	POUR SUITE A DONNER voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR98/02715	Date du dépôt international (jour/mois/année) 14/12/1998	Date de priorité (jour/mois/année) 15/12/1997
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C07K14/755		
Déposant LABORATOIRE FRANCAIS DU FRACTIONNEMENT ET ..et al.		

- Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
- Ce RAPPORT comprend 7 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
 - ☒ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent 3 feuilles.

- Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:

- I ☒ Base du rapport
- II ☐ Priorité
- III ☐ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV ☐ Absence d'unité de l'invention
- V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI ☐ Certains documents cités
- VII ☐ Irrégularités dans la demande internationale
- VIII ☒ Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 08/07/1999	Date d'achèvement du présent rapport 01.03.00
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Marinoni, J-C N° de téléphone +49 89 2399 8563



**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR98/02715

I. Base du rapport

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après (les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées, dans le présent rapport, comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications.) :

Description, pages:

1-18 version initiale

Revendications, N°:

1-23 reçue(s) avec télécopie du 31/01/2000

Dessins, feuilles:

1 version initiale

2. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- ☐ de la description, pages :
- ☐ des revendications, n°s :
- ☐ des dessins, feuilles :

3. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

4. Observations complémentaires, le cas échéant :

**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR98/02715

V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

Nouveauté	Oui : Revendications 1-23
	Non : Revendications Aucune
Activité inventive	Oui : Revendications 1-23
	Non : Revendications Aucune
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications 1-23
	Non : Revendications Aucune

2. Citations et explications

voir feuille séparée

VIII. Observations relatives à la demande internationale

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :

voir feuille séparée

Il est fait référence au document suivant :

D1: WO 96/00237

Le document suivant n'a pas été cité dans le rapport de recherche international. Une copie de ce document est jointe en annexe.

D2: J. CHROMATOGR. B. BIOMED. APPL., Vol. 662, No.2, 9 December 1994, pages 181-190, Josic et al. 'Purification of factor VIII and von Willebrand factor from human plasma by anion-exchange chromatography' MEDLINE ABSTRACT.

Concernant le point I

Base du rapport

Les modifications apportées à la présente demande par le téléfax du 31 janvier 2000 répondent dans leur forme aux exigences de l'article 34(2) PCT.

Concernant le point V

Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Nouveauté

Aucun des documents cités ne décrit un procédé d'obtention d'une solution du complexe protéique plasmatique appelé facteur VIII (voir **point VIII**, paragraphe 1) sécurisée viralemment essentiellement dépourvue de vWF de haut poids moléculaire à partir d'une solution contenant des complexes de haut poids moléculaire facteur VIII-vWF, combinant une étape de dissociation et une étape de filtration sur un filtre d'une porosité de 15 nm.

La présente demande est donc conforme au critère de l'article 33(2) PCT relatif à la nouveauté.

2. Activité inventive

Dans la présente demande, le problème technique sous-jacent réside dans l'élimination de virus éventuellement présents dans des solutions contenant facteur VIII associé à du vWF. Le problème technique provient des caractéristiques d'association du facteur vWF et du facteur VIII (vWF étant une

glycoprotéine qui circule dans le plasma sous forme de multimères ayant un poids moléculaire de 850 kDa à 20 000 kDa, cf. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), article "von Willebrand", numéro d'accès 193400) : la taille de ce complexe ne permet pas le passage au travers des pores des filtres utilisés dans l'art antérieur pour éliminer les virus des solutions de facteur VIII recombinant comme dans **D1**.

La séparation du facteur VIII et du vWF grâce au traitement par des ions Ca^{2+} après la purification du complexe facteur VIII-vWF plasmatique par chromatographie est connue, c'est-à-dire "une solution de facteur VIII de haute pureté" (voir **D2**). L'élimination des protéines vWF (c'est-à-dire de manière implicite des complexes vWF de haut poids moléculaire) par chromatographie est également envisagée afin d'obtenir une solution de facteur VIII dépourvue de vWF, et donc implicitement de vWF de haut poids moléculaire (voir le résumé). L'homme du métier, selon l'enseignement de **D1**, aurait pu envisager de filtrer la solution de facteur VIII/vWF dissocié obtenue afin d'éliminer les particules virales et de favoriser le passage au travers des pores du filtre du facteur VIII de poids moléculaire 295 kDa (c'est-à-dire d'un diamètre inférieur à celui des parvovirus, les plus petits virus envisagés). Néanmoins, rien n'aurait poussé l'homme du métier à agir ainsi car les filtres nécessaires à éliminer les petits virus ont une porosité de 15 nm et ne permettent théoriquement que le passage des molécules de poids moléculaire inférieur à 160 kDa.

En conséquence, la présente demande est conforme au critère de l'article 33(3) PCT relatif à l'activité inventive.

Concernant le point VIII

Observations relatives à la demande internationale

1. Dans les revendications telles que formulées, une confusion majeure provient du fait que l'appellation "facteur VIII" s'applique non seulement au polypeptide "facteur VIII", mais également au complexe protéique plasmatique formé de l'association d'un polypeptide "facteur VIII" et de plusieurs polypeptides "vWF". Les exemples de la présente demande sont exclusivement dirigés vers un procédé de filtration du complexe protéique facteur VIII plasmatique, c'est-à-dire le facteur VIII complexé à des molécules de vWF (voir page 8, lignes 31-34; Tableaux 1, 2, 3 et 6; Figure 1), ledit procédé comprenant obligatoirement une

étape de traitement à l'aide d'un ion divalent chaotropique et une étape de filtration sur un filtre d'une porosité de 15 nm au plus.

2. La **revendication 1** se réfère à un filtre d'une "porosité aussi faible que 15 nm". L'Autorité chargée de l'Examen Préliminaire International considère que ce terme désigne des filtres d'une porosité supérieure ou égale à 15 nm. Or, l'invention réside uniquement dans l'utilisation d'un filtre d'une porosité de 15 nm afin de laisser passer, de façon surprenante, le facteur VIII sauvage (295 kDa) et d'atteindre le but recherché (l'élimination des plus petits virus). L'utilisation de filtres d'une porosité supérieure ne répond donc pas au problème technique posé. La **revendication 1** n'est donc pas conforme aux exigences de l'article 6 PCT.
3. De plus, il apparaît que le fait que la solution de départ contienne impérativement des complexes Facteur VIII-vWF (même si elle contient en plus de ces complexes du facteur VII recombinant (revendication 17), voir page 4, lignes 25-30; page 9, lignes 7-12; page 11, lignes 12-17) est une caractéristique essentielle permettant de différencier le procédé de la présente invention des procédés de l'art antérieur (**D1**).
4. Il ressort clairement de la description (voir les exemples) que le traitement par un sel chaotropique à forte concentration (le CaCl_2 à 0.2 M final) est une caractéristique essentielle à la définition de l'invention. En effet, tous les exemples de la présente demande comprennent une telle étape. De plus, **D1** suggère que l'augmentation du rendement de filtration à haute concentration saline (0.2 M et plus, voir revendication 1) provient du fait que dans ces conditions, les protéines se contractent et peuvent passer plus facilement par les pores du filtre (page 3, lignes 12-13). La **revendication 1** ne contenant pas cette caractéristique (traitement avec un sel chaotropique à 0.2 M au moins), elle ne remplit pas la condition visée à l'article 6 PCT en combinaison avec la règle 6.3 b) PCT, qui prévoient qu'une revendication indépendante doit contenir toutes les caractéristiques techniques essentielles à la définition de l'invention.
5. Dans la **revendication 1**, les termes relatifs ("haute ou très haute pureté", "haut poids moléculaire") ou vagues ("essentiellement") introduisent un doute quant à la

signification des caractéristiques techniques auxquelles ils se réfèrent. L'objet de ladite revendication n'est donc pas clairement défini (article 6 PCT).

6. Il en est de même pour le terme "environ" (**revendications 19 et 20**).
7. Dans les **revendications 2-8**, la référence à des complexes de "haut" poids moléculaire est d'autant moins claire que la description définit les complexes de haut poids moléculaire comme contenant plus de 15 vWF par molécule de facteur VIII, par opposition aux complexes "d'un degré de polymérisation ≥ 5 ou ≥ 10 " (voir page 11, lignes 12-17). Cependant, il est évident que les complexes "d'un degré de polymérisation ≥ 5 ou ≥ 10 " englobent les complexes de haut poids moléculaire (c'est-à-dire d'un degré de polymérisation ≥ 15).
8. La **revendication 9** précise que dans le procédé des revendications 1-7, l'étape de filtration s'effectue "à une pression inférieure au seuil des recommandations préconisées par le fournisseur". Cette expression n'apporte aucun élément permettant de caractériser le procédé revendiqué car la pression envisagée n'est pas clairement définie (article 6 PCT).
9. La **revendication 10** contient une marque de fabrique qui doit être éliminée (Directives, Ch. III, 4.5b).

REVENDICATIONS

1. Procédé de préparation par filtration d'une solution de facteur VIII sécurisée viralement et essentiellement dépourvue
5 de vWF de haut poids moléculaire, selon lequel :

- on prépare une solution contenant du facteur VIII de haute ou très haute pureté essentiellement dépourvue de complexes de haut poids moléculaire facteur VIII-vWF ;
- on met en oeuvre une étape de filtration de ladite solution
10 essentiellement dépourvue de facteur VIII associé à du vWF de haut poids moléculaire sur un filtre hydrophile ayant une porosité aussi faible que 15nm.

2. Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce qu'il comprend en outre, avant l'étape de filtration, une étape
15 permettant la dissociation des complexes de haut poids moléculaire facteur VIII-vWF et l'obtention d'une solution essentiellement dépourvue de facteur VIII associé à du vWF de haut poids moléculaire.

3. Procédé selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que ladite étape de dissociation est réalisée
20 au moyen d'un ion chaotropique en quantité suffisante pour permettre la dissociation.

4. Procédé selon la revendication 3, caractérisé en ce que ledit ion chaotropique est un ion divalent.

25 5. Procédé selon la revendication 4, caractérisé en ce que ledit ion divalent est l'ion Ca^{2+} .

6. Procédé selon l'une des revendications 3 à 5, caractérisé en ce que ledit ion divalent est ajouté sous forme d'une solution saline de 0.2 M à saturation des sels.

30 7. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que ladite solution est une solution de CaCl_2 .

8. Procédé selon l'une des revendications 6 ou 7, caractérisé en ce que ledit ion Ca^{2+} est ajouté sous forme d'une solution CaCl_2 , 0.35 M à saturation.

9. Procédé selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que l'étape b) est effectuée à une pression inférieure au seuil des recommandations préconisées par le fournisseur.

5 10. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que ledit filtre est une membrane Planova® 15 N utilisé à une pression inférieure à 0,3 bar, de préférence inférieure à 0,2 bar.

10 11. Procédé selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisé en ce que l'étape b) est effectuée à une température de l'ordre de $35 \pm 5^\circ\text{C}$.

15 12. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que la solution de départ est obtenue par purification d'une fraction plasmatique, notamment la fraction cryoprécipitée du plasma, par chromatographie d'échange d'ions.

13. Procédé selon la revendication 12, caractérisé en ce que la fraction concentrée de facteur VIII obtenue à l'issue de la purification par chromatographie d'échange d'ions est éluée dans les conditions dissociantes de l'étape a).

20 14. Procédé selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que la solution de facteur VIII de départ est obtenue par pré-purification d'une fraction plasmatique, notamment la fraction cryoprécipitée du plasma, par précipitation à l'héparine.

25 15. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, caractérisé en ce que la solution de facteur VIII de départ est partiellement inactivée viralement par traitement solvant-détergent.

30 16. Procédé selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que la solution de facteur VIII de départ comprend du facteur VIII immunopurifié.

17. Procédé selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que la solution de facteur VIII de départ comprend du facteur VIII recombinant.

18. Procédé selon l'une des revendication 1 à 17, caractérisé en ce que le facteur VIII dans la solution de départ a une activité spécifique au moins égale à 50 UI/mg, de préférence au moins égale à 100 UI/mg.

5 19. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 18, caractérisé en ce que la concentration en facteur VIII C de la solution de facteur VIII de départ est de environ 2 à environ 100 U/ml, de préférence de environ 10 à environ 50 U/ml.

10 20. Procédé selon l'une des revendications 1 à 19, caractérisé en ce que la teneur en protéines de la solution de facteur VIII de départ est de environ 0.05 à environ 0.5 mg/ml, de préférence de environ 0.1 à environ 0.5 mg/ml.

15 21. Solution de facteur VIII sécurisée viralement susceptible d'être obtenue par le procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 20.

22. Solution selon la revendication 21, à titre de médicament.

23. Solution selon la revendication 22, à titre de médicament pour le traitement de l'hémophilie A.

FEUILLE MODIFIEE

TRAITE D'OPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION D'ELECTION

(règle 61.2 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

en sa qualité d'office élu

Date d'expédition (jour/mois/année) 18 août 1999 (18.08.99)	Référence du dossier du déposant ou du mandataire 339551/17112
Demande internationale no PCT/FR98/02715	Date de priorité (jour/mois/année) 15 décembre 1997 (15.12.97)
Date du dépôt international (jour/mois/année) 14 décembre 1998 (14.12.98)	
Déposant CHTOUROU, Abdessatar (Sami) etc	

1. L'office désigné est avisé de son élection qui a été faite:



dans la demande d'examen préliminaire international présentée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international le:

08 juillet 1999 (08.07.99)



dans une déclaration visant une élection ultérieure déposée auprès du Bureau international le:

2. L'élection



a été faite



n'a pas été faite

avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou, lorsque la règle 32 s'applique, dans le délai visé à la règle 32.2b).

Bureau international de l'OMPI
34, chemin des Colombettes
1211 Genève 20, Suisse

no de télécopieur: (41-22) 740.14.35

Fonctionnaire autorisé

R. Forax

no de téléphone: (41-22) 338.83.38